

## PROPRIETES TOXICOLOGIQUES AIGUES DU LATEX DE *CALOTROPIS PROCERA* CHEZ LE RAT

LOHOUES Essis Esmel<sup>1\*</sup>, TIAHOU Gnomblesonn Georges<sup>2</sup>,  
MONDE Aké Absalome<sup>3</sup>, DJINHI Joachhim<sup>4</sup>, SESS Essiagnne Daniel<sup>5</sup>

1\* Laboratoire de Biochimie UFR SMA Université de Cocody Abidjan 22 BP 166 Tél. 22 44 34 18

Mail : lohousesmel @ yahoo. fr

2 Laboratoire de Biochimie UFR SMA Université de bouaké (Côte d'Ivoire)

3 Laboratoire de Biochimie UFR SMA Université de Cocody Abidjan

4 Centre Intégré de recherches biocliniques d'Abidjan

5 Laboratoire de Biochimie UFR SMA Université de Cocody Abidjan

### Résumé

*Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. (Asclepiadacea) est une plante médicinale traditionnelle bien connue dans le monde en général et, particulièrement utilisée en Afrique occidentale dans le traitement de nombreuses affections.

Dans le cadre des connaissances sur le niveau de toxicité de la plante, nous avons entrepris la présente étude qui a permis d'effectuer un tri phytochimique de son latex et de déterminer son niveau de toxicité standard chez le rat OFA (Oncin France Souche A).

Quatre vingt rats ont fait l'objet de tests de toxicité réalisés à partir de l'administration d'une dose unique, de 0,9 ml de solution préparée sur la base de concentrations de plus en plus croissantes de latex.

Les résultats des tests phytochimiques ont montré que le latex de *C. procera* contenait des stérols, des poly phénols, des flavonoïdes et surtout des alcaloïdes.

La DL50 déterminée par la relation de BERHENS et KARBER était de 2611,75 mg/kg de poids avec une DL5 de 2110 mg/kg et une DL95 de 2950 mg/kg.

Le latex de *C. procera* serait donc toléré par le rat dans l'expérimentation.

Le rapport DL5/DL95 de 0,71 traduisait l'existence d'une marge entre l'indice thérapeutique et l'indice toxicologique du latex de *C. procera*.

Cette plante n'est probablement pas toxique.

Mots clés : *Calotropis procera*, latex, toxicité, doses létales, chimie

## Summary

*Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. (Asclepiadaceae) is a very known traditional medicinal plant in the world and, particularly utilized in west Africa in treatment of many affections.

In the setting of knowledge on the toxicity level of the plant, we undertook the present survey, doing phytochemical sorting of its latex and determining its standard toxicity level at the OFA rats (Oncin France Stump A).

The tests were realized on eighty rats by administration of 0,9ml at unique dose of solution basis of increasing concentrations of latex.

The phytochemical test results showed that latex of *C. procera* contained sterols, poly phenols, flavonoïdes and especially alkaloids.

The DL50 determined with relation of BERHENS and KARBER was of 2611,75 mg/kg of weight. The DL5 was 2110 mg/kg and the DL95 was 2950 mg/kg.

Latex of *C. procera* would be certainly tolerated by the rat.

The DL5/DL95 reports (0, 71) show the existence of a margin between therapeutic indication and toxicological indication of latex of *C. procera*.

This plant is probably not poisonous.

**Keywords :** *Calotropis procera*, latex, toxicity, lethal doses, chemistry,

## INTRODUCTION

*Calotropis procera* (Ait.) Ait.f. (Asclepiadaceae) est une plante médicinale traditionnelle bien connue dans le monde. Les parties de cette plante (racines, feuille, tige, suc) sont particulièrement utilisées en Afrique occidentale dans le traitement de nombreuses affections notamment des affections de l'appareil cardiovasculaire, de l'appareil digestif, des douleurs et affections rhumatismales, des brûlures et plaies ainsi que certaines propriétés médico-magiques (ADJANOHOUN et AKE-ASSI, 1979 ; ADJANOHOUN, 1980 ; AKE-ASSI, 1991).

Bien que la connaissance et l'usage des plantes en Afrique, relèvent pour une large part d'un savoir mystique et sacré, la pratique médicinale traditionnelle incontournable, est de plus en plus l'objet de politiques de revalorisation (ADJANOHOUN, 1990 ; PHILIPPE et al., 2001 ; TSAKALA et al. 2001).

A l'instar des scientifiques des autres pays en développement, les chercheurs en Côte d'Ivoire, s'inscrivent dans cette logique au travers d'investigations ciblées. Ces travaux qui apportent une dimension scientifique à des connaissances multi séculaires se préoccupent d'objectiver des prescriptions traditionnelles dont les origines se perdent dans le temps (ORO, 1992 ; GBANE, 1996 ; NKWENGA, 1996)

Dans le cadre des connaissances sur son niveau de tolérance, nous avons entrepris la présente étude qui s'est préoccupée d'effectuer le tri phytochimique du latex et de déterminer son niveau de toxicité chez le rat OFA (Oncin France Souche A).

## **MATERIEL ET METHODES**

### **Matériel**

80 Rats OFA (Oncin France souche A) males et femelles ont été conditionnés selon les normes internationales (LAROCHE, 1986 a et b).

Au moment de l'expérimentation, les animaux étaient âgés de 4 à 8 semaines avec un poids moyen de  $31,65 \pm 4,53$  g pour les souris (tests préliminaires) et  $152,36 \pm 18,33$  g pour les rats conformément au protocole de LAROCHE (1986a).

Le latex de *C. procera* a été prélevé sur de jeunes tiges selon la technique de la saignée puis, lyophilisé.

Le lyophilisat est conservé au séchoir jusqu'à l'expérimentation.

### **Méthodes**

Il s'agit d'une étude prospective à visée descriptive

#### **Le tri phyto chimique**

Il a nécessité l'extraction des constituants chimiques du latex par la méthode des solvants successifs (à polarité croissante) (NEMLIN et BRUNEL, 1995).

Ainsi, 20g de lyophilisat ont été repris par 60 ml de chloroforme dans une ampoule à décanter de 500 ml. Après agitation manuelle durant 15 mn, le filtrat est recueilli. L'opération est répétée avec 2 fois 60 ml de chloroforme (agitation manuelle pendant

10 mn à chaque fois). Les 3 filtrats sont réunis et concentrés à 25 ml dans un bain-marie. La solution obtenue est alors étiquetée solution 1.

Le marc est séché puis extrait avec 2 fois 60 ml de méthanol (en 2 fois 15 mn). Les filtrats ont été réunis et concentrés à 25 ml dans un bain-marie. La solution obtenue est la solution n°2.

Le reste est repris dans 2 fois 60ml d'eau distillé. Les solutions obtenues sont concentrées à 25ml dans un bain-marie. La solution obtenue est la solution 3.

Ces 3 solutions ont servi à la réalisation de réactions caractéristiques physico-chimiques portant sur des constituants chimiques d'intérêt thérapeutique :

- ❖ La recherche des stérols et polyterpènes s'est faite par la réaction de LIEBERMANN.
- ❖ La recherche des polyphénols s'est effectuée par la réaction au chlorure ferrique.
- ❖ La recherche des Flavonoïdes s'est faite par la réaction dite «à la cyanidine»
- ❖ La recherche des tanins catéchiques, de nature non hétérosidique sont formés de polymères de catéchols sous forme condensé. (par le réactif de STIASNY : formol 30 %, HCl concentré : 1/0,5)
- ❖ La recherche des tanins galliques, dérivés de l'acide gallique et combinés sous forme d'hétérosides hydrolysables à partir de la solution précédente
- ❖ La recherche des substances quinoniques libres ou combinés s'est faite à partir du réactif de BORNTRAEGEN (ammoniaque dilué au demi) qui permet de mettre en évidence les substances quinoniques libres. IL est nécessaire de procéder à une hydrolyse préalable.
- ❖ La recherche des alcaloïdes s'est effectuée par les techniques de DRAGENDORFF (réactif à l'iodobismuthate de potassium), de BOUCHARDAT (réactif iodo-ioduré), de VALSEN-MAYER (réactif à l'iodomercurate et potassium).

### **Conservation des animaux**

Les animaux ont été réunis dans l'animalerie deux (2) semaines avant l'expérimentation pour permettre leur acclimatation. Les males ont été séparés des femelles pour éviter les phénomènes d'accouplement.

Souris et Rats ont été nourris avec des granulés fournis par le Centre de Recherche Océanologiques (CRO) de Côte d'Ivoire selon une formule d'entretien (LAROCHE, 1986).

Au début de l'expérimentation, les animaux sont repartis dans les cages à raison de 5 males ou 5 femelles. Chaque lot est composé de 10 individus

### **Administration du latex**

Le lyophilisat a été repris dans de l'eau distillée. Des concentrations préliminaires ont été constituées à partir de doses très toxiques, toxiques, nocives et tolérantes (25mg/kg, 200mg/kg, 2000mg/kg, >2000mg/kg) décrites par ALAIN en 2000.

Pour chaque dose constituée, un volume de 0,9 ml /20 g de poids corporel a été administrée, par gavage, aux animaux soumis à un jeûne préalable de douze (12) heures. La dose administrée est alors exprimée en mg/kg de poids corporel (ORO, 1992 ; GBANE, 1996 ; NKWENGA, 1996).

### **Essais toxicologiques**

Les tests préliminaires ont été réalisés chez les souris SWISS afin de déterminer les zones de toxicité.

Les tests ont par la suite été repris chez le rat OFA afin de préciser les différentes doses létales.

Les troubles du comportement, le temps de latence et les mortalités ont été notés après administration du produit aux temps 30 min, 1H, 2H, 5H, 24H et chaque jour pendant 15 jours.

La DL50 est déterminée selon la relation de BERHENS et KARBER rapportée par GBANE puis NKWENGA en 1996.

La DL0 correspondra à la concentration minimale de produit pour laquelle aucun décès ne sera observé après administration du produit.

La DL100 correspondra à la concentration minimale de produit pour laquelle tous les animaux décèderont après administration du produit.

DL5 et DL 95 seront déduits pour l'appréciation des niveaux d'indices thérapeutiques et toxicologiques (ALAIN, 2000).

## RESULTATS

Le latex de *C. procera* soumis à des tests qualitatifs de mise en évidence de constituants chimiques a mis en évidence des Stérols (polyterpènes notamment), des Polyphénols, des Flavonoïdes et surtout des Alcaloïdes. Il ne contient ni tanins ni substances quinoniques (Tableau 1).

La détermination de la DL50, étude quantitative et qualitative des phénomènes toxiques rencontrés après administration unique d'un produit a permis de savoir que cette DL50 était de 2611,75 mg/kg.

Les DL 0, DL5, DL95 et DL100 estimées étaient respectivement de 2000 mg/kg, 2110 mg/kg, 2950 mg/kg et 3100 mg/kg (Tableau 2).

## DISCUSSION

La richesse du latex de *C. procera* en de nombreux composés chimiques d'intérêt thérapeutique pourrait justifier ses nombreux usages en médecine traditionnelle.

En effet les recensements et l'identification des plantes dans la médecine traditionnelle et la pharmacopée effectués par ADJANOHOUN et AKE-ASSI (1979) en côte d'Ivoire puis par ADJANOHOUN (1980) dans l'ouest africain, donnent un aperçu des usages de cette plante, seule ou en association, dans le traitement et même la prévention de nombreuses affections.

C'est certainement à dessein que cette plante est surnommée «arbre à pharmacie».

Après administration du latex, il est observé un temps de latence de 2 à 5 minutes puis dans l'ordre chronologique, un déplacement difficile, une somnolence, un ralentissement de la fréquence respiratoire et des convulsions. Les animaux deviennent ensuite inertes. Nous avons également noté une exophtalmie avec les yeux striés de sang. La mort survient dans les dix (10) à quinze (15) minutes. Après 24 H tous les animaux survivants ont récupéré. Le dénombrement des morts par lot a donc été effectué après 24 H.

Ces manifestations cliniques observées, avaient été rapportées par LAROCHE (1986 a) chez les animaux de laboratoires en phase d'intoxication aiguë, puis par ORO en 1992 dans la détermination de toxicité aiguë de cinq plantes en Côte d'Ivoire.

Les principes actifs contenus dans le latex de *C. procera*, dans la manifestation de leurs toxicités, pourraient expliquer ces comportements. Ainsi, lorsqu'ils sont en excès dans l'organisme, certains composés chimiques peuvent, au-delà de leurs activités thérapeutiques espérées, provoquer certains dysfonctionnements ou désordres létaux.

Les stérols par exemple, alcools secondaires polycycliques rencontrés dans des végétaux, sont connus pour leurs propriétés tensioactives et hémolytiques (GBANE, 1996 ; NKWENGA, 1996).

Ils ont certainement contribué à l'apparition des traces de sang pendant les phénomènes d'exophtalmie constatés avant la mort des animaux. Certains stérols notamment les triterpènes tétra cycliques sont doués de propriétés nécrosantes et cytotoxiques chez le rongeur (Mc NAMARA, 1976).

Le ralentissement de la fréquence respiratoire, de même que les convulsions peuvent être attribués à une intoxication au phénol.

En effet, les poly phénols sont des composés dont l'ingestion ou même l'inhalation, sont connues pour provoquer, entre autres, des brûlures du tube digestif, une cyanose, de l'hypoxie et des convulsions. SCHULTZ en 1986, indiquait à cet effet que l'intoxication au phénol conduisait à la mort par insuffisance respiratoire aiguë.

La somnolence et la difficulté à se déplacer pourraient être attribuées entre autres aux propriétés sédatives, anesthésiques et surtout psycho actives des alcaloïdes (LUIS BLANC et al., 1988)

La teinte jaunâtre du latex de *C. procera* pourrait être attribuée aux flavonoïdes et cela en conformité avec le résultat du test positif de la réaction à la cyanidine. Les flavonoïdes sont des pigments chlorophylliens de coloration jaunes, répandus chez les végétaux.

Selon N'KWENGA (1996), les flavonoïdes se présentent souvent sous forme d'hétérosides et sont atoxiques.

L'excitation puis l'apathie, la détresse respiratoire et le ralentissement, les difficultés de déplacements, les convulsions la défécation l'émission d'urine, signent une intoxication des rats par le latex de *C. procera*. Cette substance agirait notamment sur le système nerveux, sur le système sensoriel et sur le système musculaire. Elle pourrait également avoir des effets de nécrose sur la peau (Mc NAMARA, 1976 ; MOUTSCHEN, 1979).

La dose létale 50 (DL50) obtenue dans notre étude était de 2611,75 mg/kg.

Selon FABIANI (1986), la DLL50 permet de préciser la toxicité aiguë d'un produit.

L'étude du latex de *C. procera* conformément à l'échelle de toxicité de ALAIN (2000) nous permet de dire que le latex est bio tolérante.

*C. procera* serait-elle est une plante non toxique ?

En effet, les travaux de DEWAN et SANGRAU (2001) en Inde, situait, DL50 des feuilles de *C. procera* à 3000 mg/ kg, différente de celle que nous avons obtenue dans notre étude. Ce résultat bien que différent du notre oriente vers le caractère bio tolérant de cette plante vis-à-vis des organismes.

ADJANOHOUN cité par TAMBOURA et al. a rapporté à propos des paramètres de toxicité des plantes que, ceux-ci seraient fortement influencés par la composition des sols , leurs structures et textures ainsi que leurs situation géographique.

Les tradithérapeutes qui ont toujours été conscients de la toxicité des plantes qu'ils utilisent expriment leur prudence à travers les faibles doses qu'ils préconisent dans ces cas et qui s'expriment en pincée ou en cuillerée (PHILIPPE et al., 2001 ; TSAKALA et al. 2001).

Les proportions des rapports de DL (DL5 / DL50 ; DL50 / DL95) quant à eux, sont similaires (0,81 vs 0,88) et nous confortent dans la validité des relations utilisées.

De plus, le rapport DL5 / DL95 (0,71) nous permet de comprendre les nombreux usages de cette plante en médecine traditionnelle.

En effet, ce quotient avoisinant 1 indique que ce latex est sûr dans son usage à titre thérapeutique étant entendu que la dose thérapeutique de ce latex et probablement de cette plante est nettement distincte de sa dose toxique (ALAIN, 2000 ; TAMBOURA et al.)



## CONCLUSION

La compréhension du rôle curatif éventuel de toute plante passe par la connaissance de substances actives extraites de cette plante ainsi que de leurs effets toxicologiques.

Le latex de *Calotropis procera*, soumis à un tri phytochimique a mis en évidence une richesse en alcaloïdes, flavonoïdes, polyphénols et stéroïdes.

Ces composés chimiques présentent un intérêt thérapeutique pouvant justifier les multiples usages de cette plante en médecine traditionnelle.

Les tests toxicologiques standard réalisés chez le rat OFA, par ailleurs, ont permis de conclure que le latex de *Calotropis procera* et probablement la plante entière ne serait pas toxique.

Nos sincères remerciements au Docteur ADJOUGOUA Attoli pour sa collaboration à ce travail

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 - ADJANOHOUN E. J. (1990), Etat d'évolution de l'ethnopharmacopée africaine. *Rev. Trad. Pharm.*, T. 4, n° 1, pp. 59 - 63.
- 2 - ADJANOHOUN E. J., AKE ASSI L. (1979), Contribution au recensement des plantes médicinales de Côte d'Ivoire. C.R.E.S. UNCI Centre National Floristique. 358 p.
- 3 - ADJANOHOUN E. J. (1980), Médecine traditionnelle et pharmacopée : Rapport sur le colloque international sur la médecine traditionnelle africaine à Abidjan Côte d'Ivoire. *Bull. Méd. Pharm.*, ACCT, T.4, n°2, 203 p.
- 4 - AKE ASSI L. (1991) : Médecine traditionnelle et la pharmacopée en République Centrafricaine. éd. A.C.C.T., Paris 208 p.
- 5 - ALAIN P. (2000). Les médicaments. 3<sup>e</sup> éd. CdM 500 p.
- 6 - DEWAN S., SANGRAULA H., KUMAR V.L. (2001), Preliminary studies on the analgesic activity of latex of *Calotropis procera*. *Journal of ethnopharmacology*,

- T.84, n° 3, pp. 72 - 84.
- 7 - FABIANI P. (1986), Les études toxicologiques in l'expertise toxicologique des médicaments. Paris : Masson pp. 111 - 194.
  - 8 - GBANE A. D. (1996), Contribution à l'étude des plantes toxiques de la Côte-d'Ivoire : étude de la toxicité suraiguë de *Securidaca longipedunculata* chez l'animal de laboratoire. 92p., *Th. pharm. Abidjan.*
  - 9 - LAROCHE M. J. (1986 a), Les animaux de laboratoires in l'expertise toxicologique des médicaments. Paris : Masson pp. 39-109.
  - 10 - LAROCHE M. J. (1986 b), Réglementation relative aux études toxicologiques et à l'expérimentation animale in l'expertise toxicologique des médicaments. Paris : Masson pp. 6-20.
  - 11 - LUIS BLANC F., CACERES J., SACO-MENDES S. (1988), Cure magique par les guérisseurs andins : le recours à des plantes psycho actives. *Psychotropes*, T. IV, n°3, pp. 53 - 58.
  - 12 - Mc NAMARA B. P. (1976). Donnée générales, procédures d'évaluation, organes cibles, évaluation du risque in Toxicologie. Traduit de l'anglais par Lauguenot J C. et Rivière J. L. Paris : Masson pp 73 - 87.
  - 13 - MOUTSCHEN I. (1979), Introduction à la toxicologie générale. Paris : Masson 142 p.
  - 14 - NEMLIN J., BRUNEL J.F. (1995), Travaux pratiques de matière médicale. Fascicule 3<sup>e</sup> Année de pharmacie 48 p.
  - 15 - NKWENGA Y. L. (1996), Contribution à l'étude des plantes toxiques de la Côte-d'Ivoire : étude de la toxicité de *Sponianthus preussi* chez l'animal de laboratoire. 102 p. *Th. Pharm.*, Abidjan.
  - 16 - ORO J. A. (1992), Contribution à l'étude de plantes toxiques de Côte d'Ivoire : enquête ethnobotanique et détermination de la toxicité aiguë de cinq plantes. 142 p. *Th. Pharm.*, Abidjan.

- 17 - PHILIPPE R. ; SUZANNE R. ; HERINTSOA R. ; DAVID R. (2001), Strychnos de Madagascar : De la connaissance traditionnelle au phytomédicament. *Revue Méd. Pharm. Afr.*, n° 15, pp.15-24.
- 18 - TAMBOURA H. H., BAYALA B., LOMPO M., GUISSOU P et coll. (2005) Distribution écologique, caractéristiques morphologiques et toxicité aiguë des extraits aqueux de *Holarrena floribunda* (G. MET) DURAND et SCHINZ, *Leptadenia hastata* (PERS.) DECNE et *Casse sieberiana* (C.C) employée par les guérisseurs vétérinaires au Burkina Faso. *Journal africain de médecines traditionnelles, complémentaires et alternatives*, T.2, n°1, pp. 13 - 24.
- 19 - TSAKALA T.M. ; PENGE O. ; TONA L. ; KENGMENE T.(2001), Essai de mise en forme pharmaceutique d'un extrait de *Syzgium guineense* (Wild). *Revue Med., Pharm. Afr.* n°15, pp. 69 - 76.

**Tableau 1 : Tri phytochimique du latex de *Calotropis procera***

**Picture 1:** Phytochemical try of latex of *Calotropis procera*

Extraits	Stérois	PP	Flavonoïdes	Tanins		S Q	Alcaloïdes		
	<i>Polyterpènes</i>			<i>Gal.</i>	<i>Cat</i>		<i>D</i>	<i>B</i>	<i>VM</i>
Sol. 1	++	-	-	-	-	-	++	++	++
Sol. 2	++	+	++	-	-	-	++	++	++
Sol. 3	++	+	++				++	++	++

**N.B. :**

Sol.1 : Solution chloroformique,

Sol.2 : Solution méthanolique

Sol.3 : Solution aqueuse

Gal. = galique Cat. = catéchuque

PP = Polyphénols

S.Q = Substances quinoniques

D = DRAGENDORFF B = BOUCHARDAT VM = VALSEN-MAYER

**Tableau 2 : Détermination de la DL50 chez le rat OFA selon KARBBER-BERHENS**

Picture 2: Determination of DL50 at the OFA rat according to KARBBER-BERHENS

	Lot 1	Lot 2	Lot 3	Lot 4	Lot 5	Lot 6
<b>Dose (mg/kg)</b>	2000	2220	2385	2580	2800	3100
<b>Nombre animaux</b>	10	10	10	10	10	10
<b>Nombre décès</b>	0	1	3	4	7	10
<b>Différence doses successives (b)</b>	220	165	195	220	300	
<b>Moyenne décès entre doses (a)</b>	0,5	2	3,5	5,5	8,5	
<b>a x b</b>	110	330	682,5	1210	2550	

$$DL50 = DL100 - \frac{\sum ab}{n'}$$

N' = moyenne du nombre d'animaux par lot

$$DL50 = 2611,75 \text{ mg/kg}$$

$$DL5 = 2110 \text{ mg/kg}$$

$$DL95 = 2950 \text{ mg/kg}$$

$$DL5 / DL50 = 0,81 \quad DL5 / DL95 = 0,71 \quad DL50 / DL95 = 0,88$$